利用水稻 SSR 分子標誌偵測影響米質的數量性狀基因座

林崇正[1]、李長沛[2]、鄭舒允[1]、林育宗[1]、許愛娜[3]、曾富生[1]
吳詩都[1]、古新梅[1]*

[1]國立中興大學農藝學系
[2]行政院農業委員會農業試驗所作物組
[3]行政院農業委員會臺中區農業改良場作物改良課

摘要

本試驗以臺農 67 號(*Oryza sativa* L. cv. Tainung 67, TNG 67)及 Basmati 370 (*Oryza sativa* L. Basmati 370, B 370)為親本，利用其 F_2 族群作為偵測與米質相關性狀的數量性狀基因座(QTL)。所建構的遺傳連鎖圖譜是以 102 個簡單重複序列分子標誌所構築，其涵蓋基因組總長為 1,938 cM，分子標誌的平均相隔距離為 18.8 cM。研究中分析 14 個與米質相關性狀，共找到 11 個相關的 QTL，分布於 6 條染色體上，其中包含 4 個與米粒大小及外型相關的 QTL，如 *gw1.1*、*cgw2.1*、*cgs2.1* 及 *wcr6.1* 分別與米粒寬、飯粒寬、熟米外形和白堊質比率等性狀顯著相關，以及 7 個與烹調及食用品質相關的 QTL，如 *ei2.1*、*asv6.1*、*ac6.1*、 *gc4.1*、 *gc6.1*、*ag8.1* 及 *ag12.1* 分別與延展性指數、鹼擴散度及糊化溫度、直鏈澱粉含量、凝膠延展性和米粒香味等性狀顯著相關。

關鍵詞： 遺傳連鎖圖譜、數量性狀基因座、簡單重複序列、水稻、米質。

Tagging QTL for Grain Quality Related Traits by Rice SSR Markers

Chong-Zheng Lin[1], Chang-Pei Li[2], Shu-Yun Cheng[1], Yu-Chung Lin[1], Ai-Na Hsu[3], Fu-Sheng Thseng[1], Shu-Tu Wu[1] and Hsin-Mei Ku[1]*

[1] Department of Agronomy, National Chung Hsing University, Taichung 40227, Taiwan ROC
[2] Crop Science Division, Agricultural Research Institute, COA, Wufeng, Taichung Hsien 41301, Taiwan ROC
[3] Taichung District Agriculture Research and Extension Station, Council of Agriculture, Changhua Hsien 51544, Taiwan ROC

ABSTRACT

F_2 population derived from a cross between *Oryza sativa* L. cv Tainung 67 and Basmati 370 was generated to detect quantitative trait loci (QTL) associated with grain quality related traits. The genetic linkage map generated from this population consisted of 102 SSR DNA markers, which covered 1938 cM of rice genome with an average distance of 18.8 cM. Using interval mapping approach, a total of eleven QTL were identified and distributed on six chromosomes. In summary, four QTL, i.e., *gw1.1*, *cgw2.1*, *cgs2.1*, and *wcr6.1*, were associated with grain width, cooked grain width, cooked grain shape, and percentage of grains with chalkiness, and seven QTL, i.e., *ei2.1*, *asv6.1*, *ac6.1*, *gc4.1*, *gc6.1*, *ag8.1*, and *ag12.1*, were associated with elongation index, alkali spreading value, gelatinization, amylase content, gel consistency, and grain aroma.

Key words: Genetic linkage map, Quantitative trait loci (QTL), Simple sequence repeats (SSR), Rice, Grain quality.

前言

* 通信作者, hmku@nchu.edu.tw
投稿日期：2007 年 5 月 9 日
接受日期：2007 年 7 月 31 日
作物、環境與生物資訊 4:269-284 (2007)
Crop, Environment & Bioinformatics 4:269-284 (2007)
189 Chung-Cheng Rd., Wufeng, Taichung Hsien 41301, Taiwan ROC

水稻具有較小的基因組 (430 Mb)，近年成為研究中單子葉基因體的模式植物，亦為人類重要糧食作物，全球以水稻 (*Oryza sativa* L.)為主食的人口佔 50%以上，亞洲生產稻米總產量佔全球 90%，其中以中國大陸為最大產地及消費地。水稻可適應廣泛的栽種環境，栽培品種主要以 *indica* 及 *japonica* 這兩個亞種為主 (Moncada *et al.* 2001)。隨著時代的演進，水稻的育種逐漸從增加產量轉移到以增加食用及烹調品質為目標。一般而言，因為稻米的烹調形式以及食用偏好不同，不同地區對稻米的食味品質也可能有不同需求。以印尼為例，爪哇 (Javanese)地區的消費者喜歡穀粒結構平滑、直鏈澱粉含量中等的稻米；而位於蘇門答臘地區的消費者則喜歡質地硬、直鏈澱粉含量高的稻米 (Septiningsih *et al.* 2003)。消費者對於稻米偏好選擇大多取決於米粒香味有無、大小、外觀、透明度以及煮熟後的米粒延展程度等特性。

在米質的研究中，直鏈澱粉一直被認為是影響澱粉性質與稻米品質的重要因素 (Juliano *et al.* 1984) ，因此在米質研究中最廣為探討，直鏈澱粉的區分包括：糯性 (0-2%)；特低直鏈澱粉含量 (5-10%)；低直鏈澱粉含量 (10-20%)；中直鏈澱粉含量 (20-25%)；和高直鏈澱粉含量 (25-33%) (Juliano *et al.* 1981)。前人研究亦指出直鏈澱粉含量越高其糊化溫度越高 (Bhattacharya and Sowbhagya 1979)。一般而言，低直鏈澱粉含量的水稻品種，其米飯較黏、濕，具有嚼感；中直鏈澱粉含量品種的米飯，則比較不黏，但仍保持軟、濕，也具有嚼感；至於高直鏈澱粉含量品種的米飯，則不黏、既乾且硬(Wu and Lur 2002)。其次，另一個影響米質的因素為米粒蛋白質含量，其高低決定稻米的營養價值、米粒色澤與米飯質地，含量高的水稻品種米粒外觀呈淡褐色，烹煮時需較多的水量及較長的時間，且煮出來的米飯口感較硬(Li *et al.* 2004)。再者，另一個判定米質的依據為凝膠延展性，分為三種等級：硬凝膠 (25-40 mm)、中間程度凝膠 (41-60 mm)、軟凝膠 (61-100 mm)。凝膠延展性軟的米飯口感較為鬆軟，也較受消費者的喜愛，故針對國人喜好口感較鬆軟的米質特性，低直鏈澱粉含量、低糊化溫度、低粗蛋白質及較軟的凝膠延展性等為米質育種選拔目標(Song *et al.* 1991)。

重要農藝性狀的遺傳研究，由早期針對單一基因控制的簡單性狀研究演變成複雜性狀的主效基因(major gene)及多基因(multiple gene)共同調控的研究(Tanksley 1993)。數量性狀基因座 (quantitative trait locus, QTL)的分析即為研究複雜性狀的開端，藉由定位族群中個體的外表型及基因型的分離，配合統計分析，將與性狀相關的 QTL 定位在連鎖圖譜上，再進一步針對主效 QTL 進行擄圖選殖 (Brondani *et al.* 2002)。Salvi and Tuberosa (2005)在報告中指出 2005 年為止，已成功選殖的 11 個植物 QTL，除了玉米的植物形態 QTL 是利用 transposon tagging 外，其他均由擄圖選殖的方式成功找到目標基因；此外，Price (2006)報告中進一步探討 QTL 定位分析與其成功選殖 QTL 主效基因間圖譜位置的準確度，在所有已選殖的植物 QTL 報告中發現，初級定位族群所偵測到 QTL 位置與其最後選殖到基因位置相距不超過 3 cM，顯示初級定位族群大小在 74 到 290 cM 範圍之內，不論定位族群為 F_2、BC 或 RI (recombinant inbred lines)族群，均能精確將主效應 QTL 定位並成功選殖，由此可見對目前已選殖的 QTL 而言，其最初的 QTL 分子標誌圖譜定位分析是可信且精確的。因此初級 QTL 定位為擄圖選殖 QTL 的重要依據，選殖出的 QTL 可作為進一步探討控制複雜性狀的分子機制，以及利用分子標誌輔助選拔(marker assisted selection)或遺傳工程(genetic engineering)的方法將有利的 QTL 組合育成新的優良品種。

本研究利用臺農 67 號及香米 Basmati 370 的雜交所生產的 F_2 族群作為定位的材料，偵測與米粒外觀及烹調食用品質等性狀相關的 QTL。

材料與方法

一、試驗材料

本試驗所使用的定位族群親本為臺農 67 號（*Oryza sativa* L. cv Tainung No. 67, TNG 67)與 Basmati 370 (*Oryza sativa* L. Basmati 370, B 370)。TNG 67 除了具有穩定高產潛力、適應性廣及對病蟲害之忍耐性強之外，更具有強稈、不易倒伏、耐重肥及理想株型等優點，適合機械收穫，烹調與食用性狀為低糊化溫度、低直鏈澱粉含量低及軟凝膠性質。B 370 源自於印度旁遮普(Punjab)，分布於印度及巴基斯坦，屬於傳統 Basmati，是結合香味及高烹調延展性的稻米品系，具有相當高的市場價格 (Nagaraju *et al*. 2002)。以 TNG 67 (♀) / B 370 (♂)雜交組合的 200 株 F_2 族群，作為米質性狀遺傳分析族群，於 2004 年第一期作種植於臺中縣霧峰鄉農委會農業試驗所田區，兩親本以及逢機選取 94 株 F_2 族群分別記錄目標性狀及進行 SSR 基因型分析。

二、植株性狀調查

1. 米粒外觀相關性狀 (grain size and shape related traits)測量方法

將稻穀以脫殼機 (Satake Co., Japan)除去外殼後，所得糙米置於精白米機 (McGill No.2 Miller, Seedburo Co., USA)，加壓碾磨 30 秒後，再去除磅錘碾磨 30 秒，即可得碾白米粒。最後以完整米粒篩選機 (rice sizing device, Seedburo Co., USA)分開完整米與碎米，取完整米粒進行性狀的測量。性狀測量方法如下：(1)米粒長 (grain length, GL)及米粒寬 (grain width, GW)：取 10 粒經碾白後的完整米粒長、寬，並取平均值。(2)飯粒長 (cooked grain length, CGL) 及飯粒寬 (cooked grain width, CGW)：採用 Juliano *et al*.（1984）之測定方法略加修改，取 10 粒完整白米秤重後，在常溫下預泡於 10 ml 蒸餾水中 30 分鐘後將材料取出，置於濾紙中，放入煮沸之蒸氣鍋內不蓋鍋蓋煮 10 分鐘後取出，再浸泡於冷水中後取出並利用濾紙吸收多餘的水分，即可測量 10 粒煮熟米粒之長、寬，並取平均值。(3)生米外形 (grain shape, GS) 及熟米外形 (cooked grain shape, CGS)：平均生 (熟)米粒長/平均生(熟)米粒寬。(4)白堊質比率 (percentage of grains with chalkiness, PGWC)：逢機選 50 粒輾白後的完整白米，以下列公式計算，重複三次並計算其平均值。白堊質比率 = (具心白、腹白及背白米粒 / 50 粒米粒) × 100%。

2. 烹調及食用品質相關性狀 (cooking and eating quality related traits)測量方法

在烹調及食用品質相關性狀當中，直鏈澱粉含量、粗蛋白質含量及凝膠延展性這三個性狀需以米粉 (rice flour)來進行測定。先將白米粒碾呈細粉末後，再通過 60 mesh 篩網而獲得米粉。性狀測量方法如下：(1)熟米粒延展性比例 (elongation ratio of cooked rice, ER)：先測量碾白後的米粒、米飯長寬後，再套入公式求得。熟米粒延展性比例公式為：飯粒長度的平均值/生米粒長度的平均值。(2)延展性指數 (elongation index, EI)：飯粒長寬比的平均/生米長寬比的平均。(3)鹼擴散度 (alkali spreading value, ASV)：採用 Little *et al*. (1958)之方法，每樣品進行兩重複。並區分為七個等級：(i)米粒完全不受影響；(ii)米粒僅有膨脹現象；(iii)米粒膨脹但未破裂，並產生不完整之窄小滲出物白邊；(iv)米粒膨脹但未破裂，並已產生完整之寬幅滲出物白邊；(v)米粒膨脹已有破裂現象，但粒型依然可辨，亦產生完整之寬幅滲出物白邊；(vi)米粒已有分散現象，粒型已被滲出物白邊吞噬；(vii)粒型已完全分散，且和溶液相混呈透明狀。(4)糊化溫度 (gelatinization

temperature, GT)：鹼擴散度 (ASV)測定後，將七個等級結果做為糊化溫度高低的判定：1~2 級為高糊化溫度(74.5~80℃)，3 級為中高糊化溫度，而 4~5 級屬中糊化溫度(70~74℃)，至於 6~7 級為低糊化溫度(<70℃)(Lanceras *et al*. 2000)。(5)直鏈澱粉含量(amylose content, AC)：依據 Juliano *et al*. (1981)之方法，秤量通過 60 mesh 篩網之萃取澱粉 0.1 g，置入 100 ml 定量瓶中，兩重複，加入 1 ml 之 95%乙醇與 9 ml 之 1 N 氫氧化鈉溶液後，放置冰箱內過夜。第二日，以蒸餾水定量至 100 ml，充分混和後放入冰箱 16~18 小時。抽取 5 ml 之上述溶液，放入 100 ml 定量瓶內，加入 50 ml 蒸餾水，6 ml 鹽酸及 2 ml 碘液 (Lugol solution, Sigma Chemical Co., USA)，以蒸餾水定量至 100 ml，混和均勻，靜置 20 分鐘後利用分光光度計(UV-160, Shimadzu Co., Japon)於 590 nm 波長下測得吸光值，與標準曲線(馬鈴薯直鏈澱粉配合支鏈澱粉, Sigma Chemical Co., USA)對照，再換算成乾基重含量。(6)粗蛋白質含量 (crude protein ratio, PRO)：採用 A.A.C.C (1983) semi-micro Kjeldahl 方法，秤量 0.2 g 白米粉末，放入 100 ml 之 Kjeldahl 分解瓶中，加入白米粉末約同量之硒試劑混合物(selenium reagent mixture, Merck Art. 8030)，並加入 3 ml 之濃硫酸，加熱約 2 小時使該溶液變澄清，冷卻後加入約 10 ml 之蒸餾水在蒸餾器內蒸餾，並於蒸餾液出口處放一三角瓶，瓶內加 10 ml 之硼酸溶液、一滴混合指示劑〔0.075 g 之溴甲酚綠(bromcresol green)與 0.05 g 之甲基紅(methyl red)溶入 100 ml 95%之乙醇中〕，此時混合溶液呈淡紅色，待與樣品蒸餾液混合反應後則呈淺綠色將淺綠色溶液利用自動滴定管以 0.04 N 之鹽酸溶液滴定，使它恢復為淺紅色為止，記下鹽酸之滴定量。另需進行空白試驗，方法為將 10 ml 硼酸加一滴混合指示劑，然後如前述同樣蒸餾滴定，並記下鹽酸滴定量。將上述資料代入下列兩公式，即可求得各樣品之粗蛋白質含量。公式一：氮含量(%) = 〔(樣品之鹽酸滴定量－空白試驗之鹽酸滴定量) × 0.04 × 0.014 × 100〕/ 0.2；公式二：粗蛋白質含量百分率(%) = 氮含量百分比 × 5.95。(7)凝膠延展性 (gel consistency, GC)：依據 Cagampang *et al*. (1973)之方法，秤 0.1 g 之白米粉末倒入 11 X 100 mm 試管(Pyrex No. 9820)中，加入指示劑(25 mg 之 bromthymol blue 溶入 100 ml 之 95%酒精) 0.2 ml，混和均勻，再加入 2 ml 之 0.2 N 氫氧化鉀，經混合均勻後以玻璃珠蓋住試管口，沸水浴 10 分鐘震盪後靜置 5 分鐘，在放入冷卻槽內冷卻 20 分鐘後取出平放於方格紙上 30 分鐘後，記錄凝膠流動長度(mm)，其可分為三類：20~40 mm 屬硬性質，41~60 mm 屬中間性質，61~100 mm 則歸類為軟性質。(8)米粒香味(grain aroma, GA)：測量方法為米粒咀嚼法，從單株中取部分米粒入口咀嚼，記錄米粒香味的有無。

三、總量 DNA 萃取

參考 Cho *et al*. (1994) 的方法萃取總量 DNA，並估算 DNA 濃度及評估品質後保存於 -20 ℃下備用。

四、水稻 SSR 分子標誌分析

本試驗選擇水稻 SSR 分子標誌的依據是參考水稻資料庫 Gramene 網站 (http://www.gramene.org/) 及 McCouch *et al*. (2002)提供之 SSR 引子資訊。選擇平均分佈於水稻 12 條染色體上的 SSR 分子標誌，每條染色體上平均約有 24 個 SSR 分子標誌，共計 285 個。針對親本間 SSR 之多型性進行篩選，再進一步將具有多型性的 SSR 分子標誌分析 94 個 F_2 子代。分析完 94 個 F_2 子代後再進行 SSR 分子標誌與外表型性狀做遺傳性狀相關分析，SSR 分析的操作步驟則是參照 McCouth *et al*. (1997) 的方法。

五、統計分析

將聚丙醯胺膠體上的多型性條帶資訊整

理成 Mapmaker/Exp (version 3.0b)軟體(Lander *et al.* 1987)可讀取格式，即子代 PCR 產生的多型性與親本相同的同質個體分別定為 〞A〞(TNG 67) 和 〝B〞(B 370)，異質結合體定為 〞H〝，PCR 缺失的子代以 〞-〝 表示。設統計檢定值 LOD 值以 2.4 為門檻值，構築遺傳連鎖圖譜。以 Qgene (Nelson 1997)的 χ^2 測驗來測試所有 SSR 分子標誌在 F2 族群的分離比是否符合 1:2:1。利用 Qgene 軟體以區間定位法 (interval mapping, IM) 來偵測 QTL 位置，LOD 門檻值設為 3.0，求得顯著性 QTL 所在的區間分子標誌後，再利用單點分析（single point analysis）來計算區間裡邊最顯著 peak marker 的 PVE 值(the percentage of phenotypic variations explained by marker loci）。

六、圖譜比對

將本族群的遺傳圖譜與水稻資料庫 Gramene (http://www.gramene.org/)上前人所發表過的遺傳圖譜進行比對，以 〞Genetic Maps - Cornell IR64/Azucena SSR 2001〞 及 〞Sequence Maps - Cornell Class I SSR (TIGR) 2005〞 的圖譜為優先比對圖譜，如果本族群所使用的分子標誌在上述兩個圖譜都沒有被使用的話，則再找網站上其他圖譜來進行比對。

結果與討論

調查親本性狀發現 TNG 67 的鹼擴散度(ASV)程度為 6 (米粒已有分散現象，粒型已被滲出物白邊吞噬)，低糊化溫度(GT)，另一親本 B 370 的 ASV 為 3 (米粒膨脹但未破裂，並產生不完整之窄小滲出物白邊)，高 GT；此外 TNG 67 的凝膠延展性(GC)為軟性質(91.8 mm)，B 370 為中間性質(41 mm)；米粒香味(GA)為質量性狀的判定，TNG 67 米粒不具香味，B 370 米粒具有香味。親本其他性狀差異如 Table 1 所示，其中兩親本的凝膠延展性(GC)、米粒長(GL)、米粒寬(GW)、飯粒長(CGL)、飯粒寬(CGW)、生米外形(GS)、

Table 1. The comparisons of grain quality related traits between TNG67 and B370.

Trait	Mean		
	TNG 67	B 370	*P*-value[y]
ER[x]	1.81 ± 0.12	1.83 ± 0.06	0.6431
EI	1.21 ± 0.10	1.31 ± 0.12	0.2015
AC (%)	19.04 ± 0.40	19.96 ± 1.16	0.1316
PRO (%)	6.78 ± 0.46	7.41 ± 0.01	0.3042
GC (mm)	91.80 ± 5.40	41.00 ± 6.38	＜0.0001
GL (cm)	0.49 ± 0.03	0.65 ± 0.03	＜0.0001
GW (cm)	0.31 ± 0.01	0.23 ± 0.01	＜0.0001
CGL(cm)	0.89 ± 0.04	1.19 ± 0.08	＜0.0001
CGW(cm)	0.45 ± 0.01	0.32 ± 0.02	＜0.0001
GS	1.62 ± 0.10	2.88 ± 0.10	＜0.0001
CGS	1.96 ± 0.08	3.77 ± 0.41	0.0005
PGWC (%)	28.37 ± 5.32	52.28 ± 8.29	0.0012

[x] Trait: ER, elongation ratio of cooked rice; EI, elongation index; AC, amylose content; PRO, crude protein ratio; GC, gel consistency; GL, grain length; GW, grain width; GS, grain shape; CGL, cooked grain length; CGW, cooked grain width; CGS, cooked grain shape; PGWC, percentage of grains with chalkiness.

[y] Probability obtained from t-test.

熟米外形(CGS)及白堊質比例(PGWC)等呈顯著性差異，而熟米延展性比例(ER)、延展性指數(EI)、直鏈澱粉含量(AC)及粗蛋白質含量(PRO)等差異則不顯著。分析本試驗 F_2 族群性狀頻度分布結果發現 GL、GS、CGL、CGW、CGS、ER、EI 及 AC 較接近常態分布，此外親本 GA 為質量性狀的判定，即性狀有無的判定，但在 F_2 族群中則有香味濃淡的差別； GS 及 CGS 在 F_2 族群頻度分布明顯偏向 B 370，ER、EI、AC 及 PRO 的 F_2 族群分佈則有超越親本的現象(Fig. 1)。

前人研究野生稻與栽培稻雜交族群顯示在 DNA 層次上，RFLP 所偵測親本多型性(12%)比 SSR 分子標誌(59.6%)少很多，因為

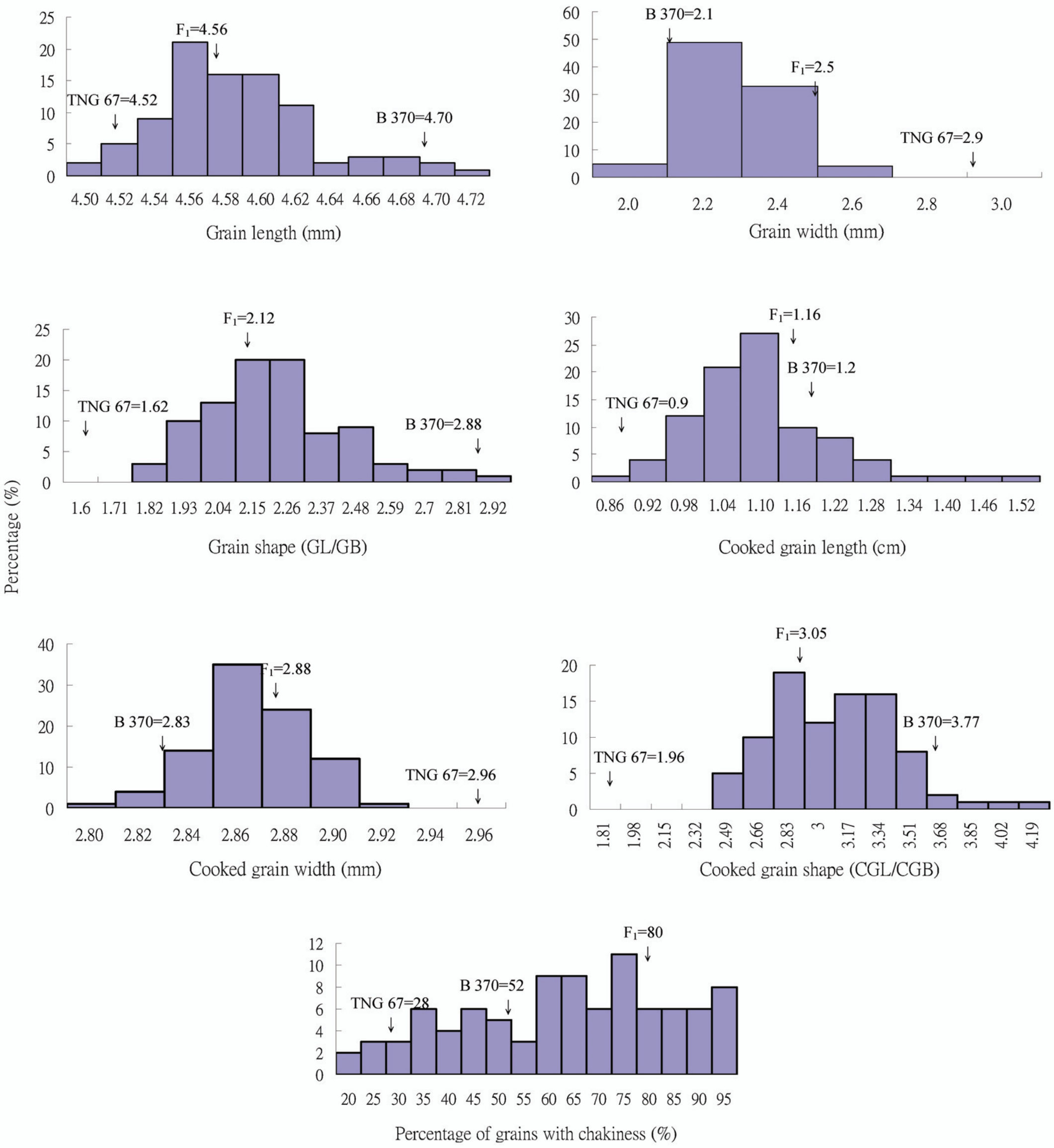

Fig. 1A.Phenotypic frequency distribution of each trait (grain size and shape related traits) for the F_2 population. The phenotypes of Tainung 67 (TNG 67), Basmati 370 (B 370) and F1 are indicated by arrow.

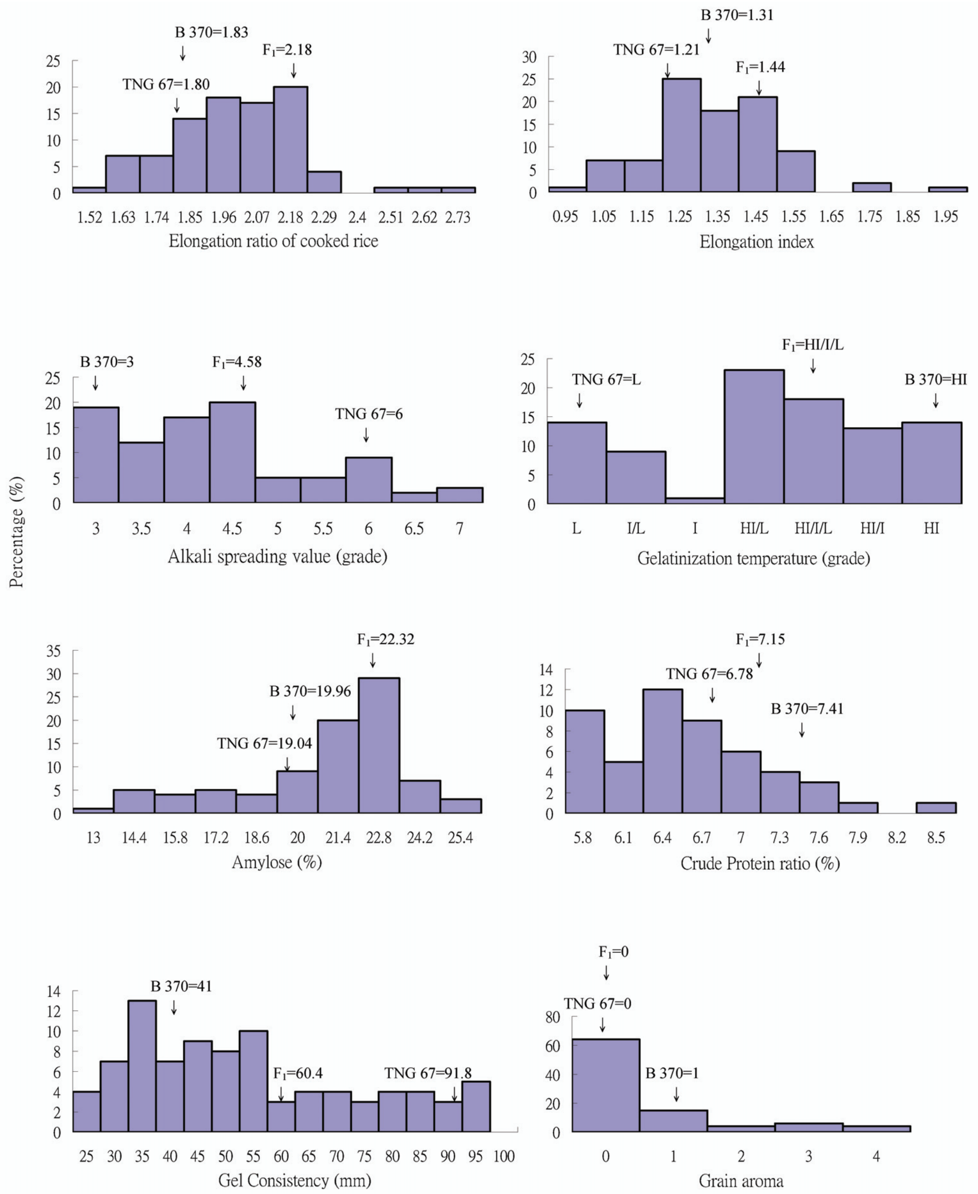

Fig. 1B. Phenotypic frequency distribution of each trait (cooking and eating quality related traits) for the F_2 population. The phenotypes of Tainung 67 (TNG 67), Basmati 370 (B 370) and F1 are indicated by arrow.

RFLP 所篩選多為基因區而 SSR 分子標誌多為非基因區，故 SSR 分子標誌能提供較高多型性(Xiao *et al*. 1998)。本試驗為栽培稻 *indica* x *japonica* 間雜交族群，篩選 285 個 SSR 分子標誌，其中 160 個分子標誌具多型性(56%)，比 Lin *et al*. (2007)報告中的 Milyan23-3 (*indica*) x 臺中 189-3 (*japonica*)之 F_2 雜交族群的 SSR 多型性(25%)高，可能原因是本試驗所用的親本遺傳背景差異較大，故多型性較高。此外，本試驗篩選 SSR 分子標誌在 F_2 定位族群偏離 1:2:1 理論值占 7%，與 Lin *et al*. (2007)報告 8%相近。Lanceras *et al*. (2000)分析 *indica* x *japonica* 之重組自交系(RI) ，發現 SSR 分子標誌在 RI 定位族群偏離理論分離比

高達 63%。一般而言，過多偏離分子標誌會造成定位之誤差，並不適用於建構分子標誌圖譜，故 F_2 比 RI 族群適於分子標誌圖譜的建立，但每個 RI 基因組中大多為同質性高(後代不再分離)，每個 RI 植株可有無限的重複個體故視為為永久族群，其適合進行重複試驗的特性，則為定位 QTL 的最佳材料(Tanksley 1993)。將親本間具多型性的 160 個 SSR 分子標誌分析 F_2 族群後，有 109 個 SSR 分子標誌具有清晰可辨認的多型性，進一步用來建構分子標誌圖譜，經 Mapmaker 分析後，產生 12 個連鎖群組與水稻 12 條染色體相互對應。其中的 102 個 SSR 分子標誌可成功地定位在圖譜上，剩下 7 個分子標誌無法歸類於任何連鎖群，分別為 RM212(第一條染色體)、RM599(第二條染色體)、RM60、RM422(第三條染色體)、RM564(第四條染色體)、RM437(第五條染色體)及 RM3819(第八條染色體)。將本試驗所建構圖譜與水稻基因組資料庫 Gramene 的參考圖譜比較，位置順序不同的區域有第一條染色體下端的 RM414, RM315, RM5389, RM476B(Fig. 2A)，及第九條染色體下端的 RM278, RM257 (Fig. 2B)。

Thomson *et al.* (2003)報告中指出分離偏差 (skewed segregation)可能會造成遺傳連鎖圖譜建構時，分子標誌的順序產生改變。此外，Brondani *et al.* (2002)的報告中推測越親分離(transgressive segregation)可能是親緣關係遠的親本雜交造成基因滲入(introgress)而增加遺傳變異，也會影響建構的圖譜基因順序；Brondani *et al.* (2002)認為

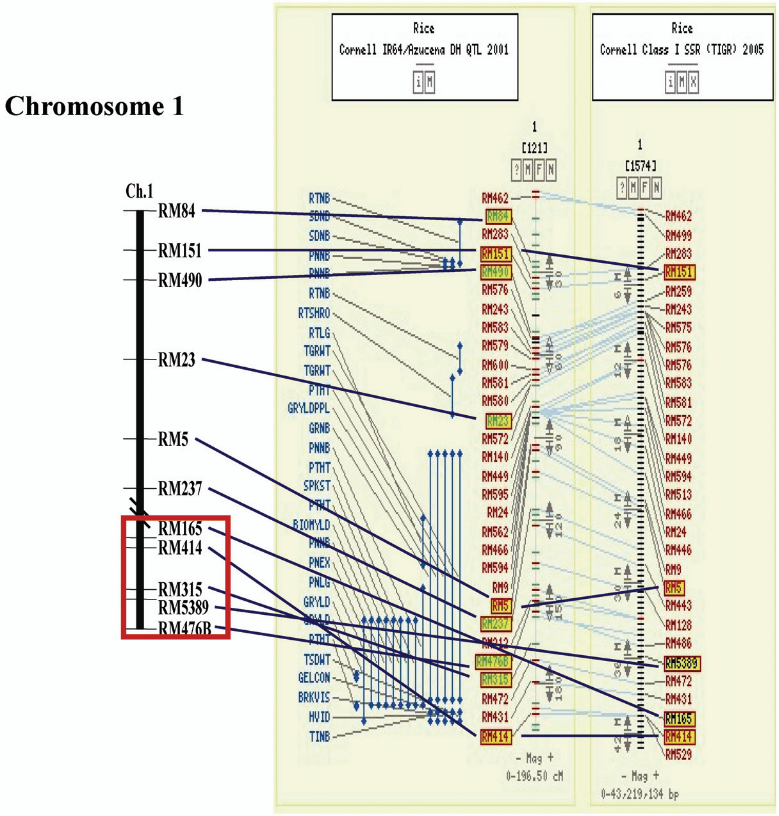

Fig. 2A.The order of SSR markers on chromosome 1 in the genetic linkage map between this study (left) and previous research (right). The square boxes represent the regions showing the different order of SSR markers.

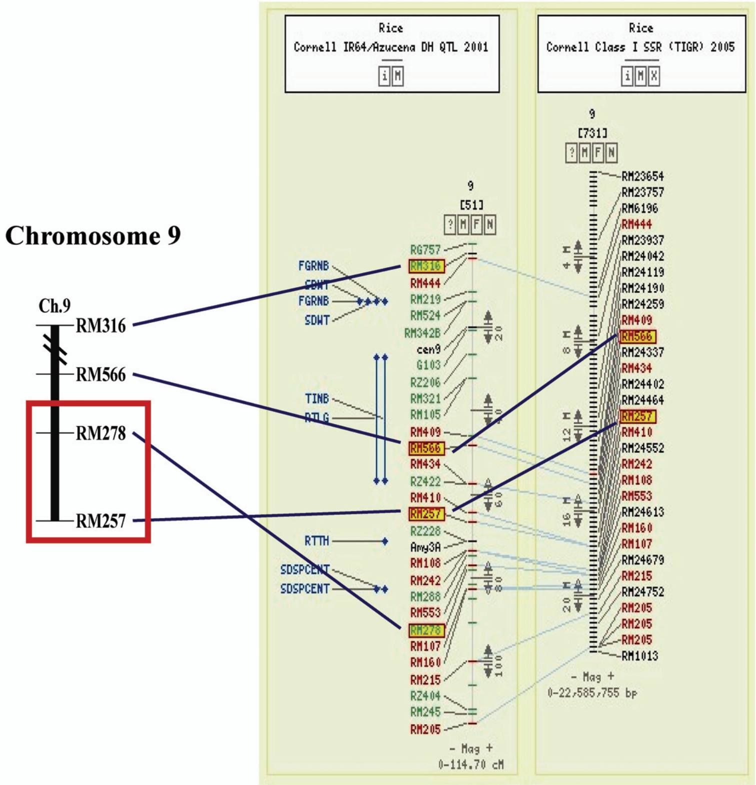

Fig. 2B. The order of SSR markers on chromosome 9 in the genetic linkage map between this study (left) and previous research (right). The square boxes represent the regions showing the different order of SSR markers.

位於染色體的末端的片段較不易被正確定位，在本試驗中分子標誌順序不同的區域即位在第一條及第九條染色體下端；另一個原因可能是在圖譜上所使用的分子標誌數目不夠多所致， Lander *et al*. (1987)表示繪製遺傳連鎖圖譜時，任意兩分子標誌間的距離若大於 50 cM 時，則歸屬在不同的連鎖群組。本試驗族群中在第一條及第九條染色體上所使用的 SSR 分子標誌，在親本間大於 50 cM 的距離才能找到具有多型性的 SSR，以第一條染色體為例，Mapmaker 依然將第一條染色體上所有的 SSR 分子標誌歸類在同一個群組(group)，軟體在繪製圖譜時在判讀上將 group 1 中又分成 RM84-RM237 及 RM165-RM476B 兩個小群，排序過程中此二群因大於 50 cM，而造成圖譜上有一小段的 SSR 分子標誌順序(部分染色體位置上下顛倒)與前人所發表的不同。Brondani *et al*. (2002)認為在大於 50 cM 的距離中，若分子標誌數目增加後，應可避免在排序上的錯誤，因此本試驗嘗試在此二區篩選更多 SSR 分子標誌，但可能由於親緣背景在這些區域很相近，故此二區域很難找到具多型性的 SSR 分子標誌，將來可嘗試用其他分子標誌如 AFLP (amplified fragment length polymorphism)等填滿此區。

如 Fig. 3、Table 2 所示，14 個與米質相關性狀，共找到 11 個相關的 QTL，分布於 6 條染色體上，其中 4 個與米粒大小及外型相關的 QTL 為 *gw1.1*、 *cgw2.1*、*cgs2.1* 及 *wcr6.1*，分別與米粒寬、飯粒寬、熟米外形和白堊質比率等性狀顯著相關；另 7 個與烹調

及食用品質相關的 QTL 為 *ei2.1*、 *asv6.1*、*ac6.1*、*gc4.1*、*gc6.1*、*ag8.1* 及 *ag12.1*，分別與延展性指數、鹼擴散度及糊化溫度、直鏈澱粉含量、凝膠延展性和米粒香味等性狀顯著相關。與米粒寬（GW）相關的 QTL 為 *gw 1.1*，位在第一條染色體 RM151-RM84 區間，無顯性效應，其可增加米粒寬的等位基因來自 TNG 67，PVE 為 17.5% 。Wan *et al.* (2005) 在 XNpb113-C112 附近找到一個與米粒寬相關的 QTL，與本試驗所找到的位置相近。與飯粒寬(CGW)相關的 QTL 為 *cgw2.1*，位在第二條染色體 RM8-RM174 區間，無顯性效應，可增加 CGW 性狀的等位基因來自 TNG 67，PVE 為 14.2%。Li *et al.* (2004)在第一條染色體上 RG331、第十條染色體上 CDO250、第十一條染色體上 RG303 及第十二條染色體上 R247 附近找到四個與飯粒寬有關的 QTL，在第二條染色體上並沒有發現相關的 QTL。與熟米外形(CGS)相關的 QTL 為 *cgs 2.1*，位在第二條染色體 RM8-RM174 區間，為部分隱性，可增加 CGS 的等位基因來自 Basmati 370，PVE 為 15.5%。Li *et al.* (2004)在第三條染色體上 RZ251、第四條染色體上 RM241 以及第十二條染色體上 R247 附近找到三個與 CGS 相關的 QTL，在第二條染色體上並沒有發現與 CGS 相關的 QTL。與白堊質比率(PGWC)相關的 QTL 為 *pgwc 6.1*，位在第六條染色體 RM589-RM190 區間，為部分隱性，增加 PGWC 的等位基因來自 Basmati 370，PVE 為 44.1%。在前人研究結果中並未在相同的區域找到與PGWC相關的 QTL。前人報告中在第一條染色體 R210-C955、C2340-C1370 區間(Wan *et al.* 2005)、第二條染色體 G1340-R459 (Wan *et al.*

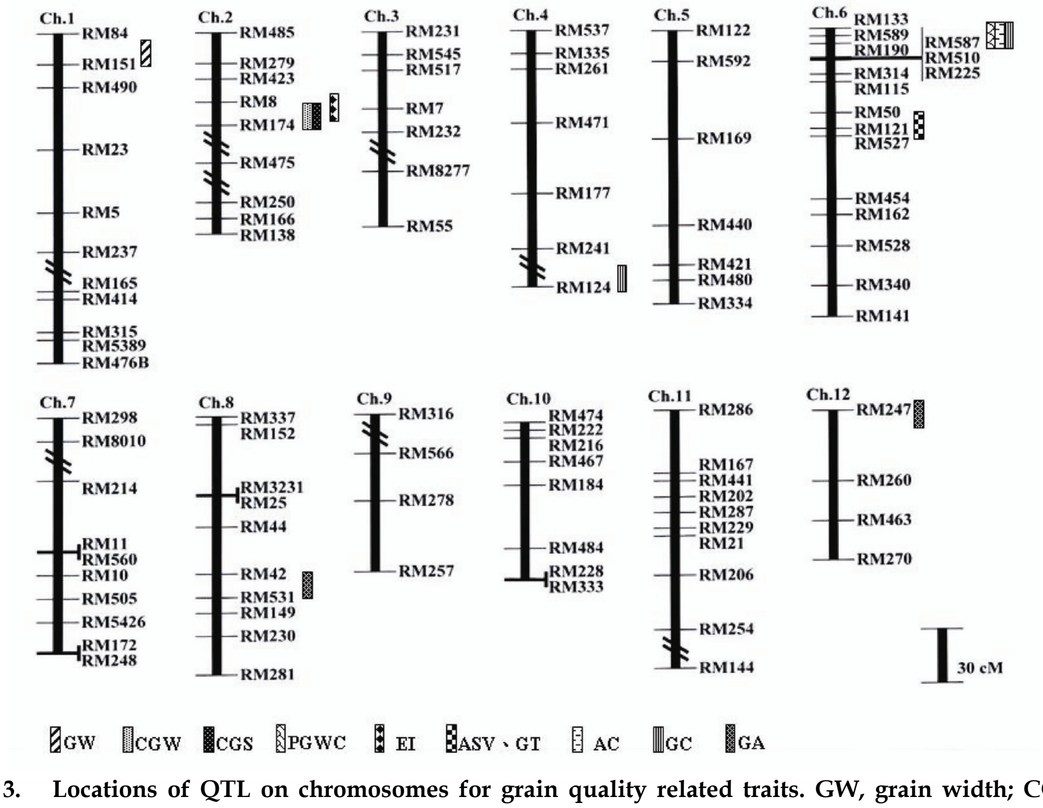

Fig. 3. Locations of QTL on chromosomes for grain quality related traits. GW, grain width; CGW, cooked grain width; CGS, cooked grain shape; PGWC, percentage of grains with chalkiness; EI, elongation index; ASV, alkali spreading value; GT, gelatinization temperature; AC, amylose content; GC, gel consistency; GA, grain aroma.

Table 2. The results of QTL mapping associated with grain quality related traits.

Trait[a]	QTL[b]	Chrom.[c]	Increase effect[d]	Markers interval[e]	Peak marker[f]	LOD[g]	PVE[h]	D/A[i]
GW	*gb 1.1*	1	TNG67	RM151-RM84	RM151	3.7	17.5	0.00
CGW	*cgb 2.1*	2	TNG67	RM8-RM174	RM174	3.1	14.2	0.00
CGS	*cgs 2.1*	2	B370	RM8-RM174	RM174	3.6	15.5	-0.88
PGWC	*wcr 6.1*	6	B370	RM589-RM587	RM589	12.0	44.1	-0.11
EI	*ei 2.1*	2	B370	RM8-RM174	RM8	3.3	13.8	-0.11
ASV、GT	*asv 6.1*	6	TNG67	RM50-RM527	RM121	5.3	23.4	0.00
AC	*ac 6.1*	6	B370	RM133-RM190	RM589	21.6	68.8	-0.69
GC	*gc 4.1*	4	B370	RM241-RM124	RM124	3.0	12.0	-5.75
	gc 6.1	6	TNG67	RM133-RM190	RM589	6.6	16.0	-0.82
GA	*ag 8.1*	8	B370	RM42-RM531	RM42	3.4	15.4	0.41
	ag 12.1	12	B370	RM247-RM260	RM247	3.3	15.3	-32.70

[a] Trait: GW, grain width; CGW, cooked grain width; CGS, cooked grain shape; PGWC, percentage of grains with chalkiness; EI, elongation index; ASV, alkali spreading value; GT, gelatinization temperature; AC, amylose content; GC, gel consistency; GA, grain aroma.

[b] Numbers following the letters represent the chromosome locations of the QTL.

[c] Chrom. is the location of markers on chromosome.

[d] The source of parental allele increases the value of the traits.

[e] Interval markers represent the maker regions showing the highest LOD score through interval mapping by Qgene.

[f] Peak marker represents the marker showing the highest effect on the trait of interest through single point analysis by Qgene.

[g] Log-likelihood (LOD≧3.0) value calculated by Qgene.

[h] PVE = the percentage of variatons explained by the peak marker locus through single point analysis = R^2 x 100.

[I] D/A = degree of dominance.

2005)、第三條染色體 CT211A-G1318 (He *et al*. 1999) 、RM148 (Li *et al*. 2004)、第八條染色體靠近 G187-RZ66 (He *et al*. 1999)、G1149-R727 (Wan *et al*. 2005)、在第九條染色體靠近 XNpb36-XNpb103 (Wan *et al*. 2005) 以及在第十二條染色體靠近 CT462-RG574 (He *et al*. 1999)、RZ397 (Li *et al*. 2004)的區域，都曾發現與 PGWC 有關的 QTL。

與延展性指數(EI)相關的 QTLs 為 *ei 2.1*，位第二條染色體上 RM8-RM174 區間，為部分隱性基因，可增加 EI 的等位基因來自 Basmati 370，PVE 為 13.8%；前人研究在延展性性狀上多以延展性比例與(ER)作為性狀的判定，EI 及 ER 的性狀測量差異是 EI 的計算公式有包含 GB 及 CGB。Ahn *et al*. (1993) 以 Basmati 370 作為雜交親本之一，在第二條染色體上 RZ913 及 RZ103 分子標誌的附近找到了兩個與 ER 相關的 QTL，與本試驗找到的 QTL 位置相近。鹼擴散度(ASV)及糊化溫度(GT)相關的 QTL 為 *asv 6.1*，位第六條染色體 RM50-RM121 區間，無顯性效應，可增加 ASV 程度及降低 GT 的等位基因皆來自 TNG 67，PVE 為 23.4%；Aluko *et al*. (2004) 在第六條染色體上找到兩個與 ASV 有關的 QTL，其中在 RM253-RM162 附近所找到的 QTL 與本試驗所找到的 QTL 位置相近；Fan *et al*. (2005)在 RM276-RM121 找到一個與 ASV 有關的 QTL，位置亦相近。與直鏈澱粉含量(AC)相關的 QTL 為 *ac 6.1*，位在第六條染色體 RM133-RM589 區間，為部分隱性基因，增加 AC 的等位基因來自 Basmati 370，PVE 為 68.8%；本試驗的 *ac 6.1* 與前人研究中找到的 AC 相關 QTL 位置都與第六條染色體上 *wx* 基因座很接近(Fan *et al*. 2005, He *et al*. 1999, Lanceras *et al*. 2000, Tan *et al*. 1999)，除此區外前人研究也找到其他區域與

AC 相關的 QTL (Tan *et al*. 1999)。

本試驗中找到與凝膠延展性(GC)有關的 QTL 有兩個，分別位在第四條染色體的 *gc 4.1* (RM241-RM124)，為超隱性基因，增加 GC 的等位基因是來自 Basmati 370，PVE 為 12%，另一個位於第六條染色體的 *gc 6.1* (RM589-RM190)為部份隱性基因，其增加GC 的等位基因是來自 TNG 67，PVE 為 16%；其中在第四條染色體與 *gc 4.1* 相近位置上，Wan *et al*. (2005)在 C445-Ky4 區域與 GC 有關的 QTL。Tan *et al*. (1999)在第六條染色體上以單點分析找到五個分子標誌與 GC 有關，其中 *Wx* 及 R565 這兩個分子標誌與本試驗所找到的兩個 QTLs 位置相近；Lanceras *et al*. (2000)在第六條染色體上找到兩個與 GC 有關的 QTLs，其中 *Waxy*-RM225 區域與本試驗所找到的位置相近；Fan *et al*. (2005)在第六條染色體上找到三個與 GC 有關的 QTLs，其中 RM170-RM589 及 RM190-RM587 位置與本試驗所找到的位置相近。與米粒香味(GA)有關的 QTL 有兩個，分別為第八條染色體上的 *ga 8.1* (RM42-RM531)及第十二條染色體上的 *ga 12.1* (RM247-RM260)，*ga 8.1* (PVE 為 15.4%)為部分顯性基因，*ga 12.1* (PVE 為 15.3%)為超隱性基因，增加 GA 的等位基因皆來自 Basmati 370。Ahn *et al*. (1993)以 Basmati 370 作為雜交親本之一，於 RZ323-RG1034 的附近找到了一個與 GA 有關的 QTL，位置與本試驗所找到的 *ga 8.1* 接近。此外，本試驗以區間定位法沒有偵測到與米粒長(GL)、生米外形(GS) 、飯粒長(CGL) 、熟米粒延展性比例(ER)及粗蛋白含量(PRO)相關的 QTL。而在相同區間找到兩個以上不同性狀相關的 QTL 的有第二條染色體上的 *cgw2.1*、*cgs2.1* 及 *ei2.1*，以及第六條染色體上的 *wcr6.1*、*ac6.1* 及 *gc6.1* (Fig. 3 及 Table 2)。前人研究也發現一個 QTL 區間同時影響多個性狀的現象，且各個性狀間也會影響彼此的表現程度(Yan *et al*. 1999；Yamamoto *et al*. 2000)，Bao *et al*. (2002)及 Hittalmani *et al*. (2003)表示同一 QTL 區域影響多個性狀的原因，也許是這些性狀同時受到同一個 QTL 所控制，即此 QTL 具有基因多效性(pleiotropism)，或是控制這些性狀的個別 QTL 彼此之間緊密連鎖所造成。

如 Table 3 所示，分析性狀間的相關性結果發現 GL 與 GS、CGL 及 CGS 之間呈顯著正相關，與 ER、EI 及 PRO 之間呈顯著負相關；GW 與 CGW 及 EI 之間呈顯著正相關，與 GS、CGS 及 PRO 之間呈顯著負相關；GS 與 CGL 及 CGS 之間呈顯著正相關，與 CGW、ER、EI 及 AC 之間呈顯著負相關；CGL 與 CGS、ER 及 EI 之間呈顯著正相關；CGW 與 CGS 及 PRO 之間呈顯著負相關；CGS 與 ER 及 EI 之間呈顯著正相關；PGWC 與 ER、EI 及 AC 之間呈顯著正相關，與 GC 之間呈顯著負相關；GA 與 AC 呈顯著負相關；ER 與 EI 之間呈顯著正相關，與 GC 之間呈顯著負相關；EI 與 GC 之間呈顯著負相關；AC 與 GC 之間呈顯著負相關；PRO 則與 GC 之間呈顯著負相關。前人研究顯示表示稻米品種欲具有良好的 ER 性狀，其 GC 最好居中等程度 (41-60 mm)，在本試驗相關性分析的結果中， ER 及 EI 與 GC 皆呈顯著的負相關 (-0.245, -0.273) (Table 3)，其結果與前人研究結果相符 (Septiningsih *et al*. 2003)；在 Juliano and Perez (1983)報告中指出 AC 高的稻米品種通常都具有較高的 GT，但在本試驗中 ASV 與 GT 與其他所有性狀並不具顯著相關性；Li *et a*l. (2004)報告中指出米粒 PGWC 是由心白、腹白及背白來判定，而白堊質產生的原因則是因為澱粉及蛋白質顆粒排列鬆散所造成，故與的結果本試驗中 AC 與 PGWC 性狀間呈極顯著的正相關 (0.525)相符。

另外在本試驗中，AC 與 GC 呈極顯著的負相關 (-0.427)，與 Bao *et al*. (2002)性狀間相關分析結果(-0.57)相符，此外，Septiningsih *et al*. (2003)曾表示 GC 的判別

Table 3. Phenotypic correlations among traits in the F_2 population derived from a cross between Tainung 67 and Basmati 370.

Trait [x]	GL	GW	GS	CGL	CGW	CGS	PGWC	GA	ER	EI	ASV, GT	AC	PRO
GW	-												
GS	0.833**	-0.570**											
CGL	0.368**	-	0.236*										
CGW	-	0.641**	-0.245*	-									
CGS	0.259*	-0.249*	0.345**	0.834**	-0.430**								
PGWC	-	-	-	-	-	-							
GA	-	-	-	-	-	-	-						
ER	-0.413**	-	-0.407**	0.691**	-	0.620**	0.262*	-					
EI	-0.437**	0.236*	-0.493**	0.572**	-	0.641**	0.241*	-	0.905**				
ASV, GT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
AC	-	-	-0.219*	-	-	-	0.525**	-0.244*	-	-	-		
PRO	-0.340*	-0.452**	-	-	-0.567**	-	-	-	-	-	-	-	
GC	-	-	-	-	-	-	-0.308**	-	-0.245*	-0.273*	-	-0.427**	-0.340*

[x] Trait: GL, grain length; GW, grain width; GS, grain shape; CGL, cooked grain length; CGW, cooked grain width; CGS, cooked grain shape; PGWC, percentage of grains with chalkiness; GA, grain aroma; ER, elongation ratio of cooked rice; EI, elongation index; ASV, alkali spreading value; GT, gelatinization temperature; AC, amylose content; PRO, crude protein ratio; GC, gel consistency

*, ** Significant at 0.05 (*) and 0.01(**) probability levels, respectively; only the values of correlation coefficient below P-value 0.05 were shown.

常用來區分具有相似 AC 的穀粒質地，且一般而言軟凝膠延展性之品種的米種的米飯較為鬆軟，Bhattacharya and Sowbhagya (1979) 指出 AC 越高的稻米品種會同時具有硬的 GC 性質(即較低的 GC 值)；Septiningsih *et al.* (2003)報告中發現 GC 與 AC 間有很高的負相關(-0.210, $P < 0.0005$)，在其族群當中，高 AC 的植株都具有低的 GC 性質，屬於硬質地，其結果與本試驗的實驗結果相符； Li *et al.* (2004)表示食味品質與 PRO 呈負相關，且 PRO 會影響米飯的柔軟度(tenderness)及黏合度(cohesiveness)。一般而言，PRO 高的水稻品種米粒外觀呈淡褐色，烹調時需較多的水量及較長的時間，且煮出來的米飯口感較硬，本試驗的結果 PRO 與 GC 呈顯著的負相關 (-0.340)與學者所述相符。在本試驗中 GA 與 AC 呈顯著的負相關 (-0.244)，可能由於親本材料不同，故前人研究中並未做米粒香味與 AC 的相關分析。

本試驗在區間定位法的結果中，並沒有發現與 ER 及 PRO 性狀有關的 QTL，另外本試驗找到的 CGW, CGS, 及 PGWC 相關的 QTL 位置與前人研究所發表的區域不同，可能的原因如下：

1. 親本選擇造成的影響：

Cai and Morishima (2002)利用野生種/栽培種、多年生/一年生及印度型/日本型這三種雜交親本進行 QTL 的分析時，發現野生種/栽培種及印度型/日本型這兩種雜交組合中所找到的 QTL 數量比較多且較顯著。本試驗與數個前人研究中找到 AC 相關位置均位於 *wx* 基因座附近(Li *et al.* 1994, He *et al.* 1999, Tan *et al.* 1999, Septiningsih *et al.* 2003)，而 Wan *et al.* (2004)在 *wx* 區域並沒有找到與 AC 相關的 QTL，學者認為這也許是因為親本間(Asominori 及 IR24)性狀差異太小所造成的，同理可解釋本試驗 ER 及 PRO 兩性狀在親本間差異並不顯著(Table 1)，可能因此沒找到顯著相關的 QTL。此外，Tanksley (1993)報告中提到當兩親本的親源太近時，具多型性的分子標誌數目少，亦會使分析時的區間過大，而無法進行分析，本

試驗亦發現第九及第十二條染色體數個區域親本間無多型性，造成分子標誌密度不高(Fig. 3)。Tanksley (1993)報告中亦提到不同親本所建構之定位族群所找到相同的 QTL 區域，稱為高度保留性的 QTL，在應用上較為穩定與可靠，如本試驗中的 *gw1.1*、*ei2.1*、*asv6.1*、*ac6.1*、 *gc4.1*、 *gc6.1* 及 *ga8.1* 等 QTL 與前人研究所找到的相關 QTL 位置相近，故可提供育種學家進行分子標誌輔助育種時之參考用。

2. 使用的分子標誌種類：

不同的分子技術所偵測的基因組片段位置不同，因此獲得具有多型性的分子標誌數目也不同。例如限制酵素長度多型性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)及增幅片段長度多型性(amplified fragment length polymorphism，AFLP)所得到的片度是經由限制酵素所截切下的片段，其多型性受到限制酵素切位及片段大小所影響(Botstein *et al*. 1980, Vos *et al*. 1995)，而簡單重複序列(simple sequence repeats, SSR)的多型性是受到重複序列套數的重複次數所影響(Tautz *et al*. 1989)。當具多型性的分子標誌數目少，即兩個分子標誌間隔 (gap)太大時，會造成遺傳連鎖圖譜繪製的分群及排序錯誤，造成 QTL 偵測過程中產生誤差的機率(Lander *et al*. 1987，Tanksley 1993)。

3. 環境造成的影響：

Fan *et al*. (2005)報告中探討 QTL 與環境間的影響(QTL-by-environment interaction)顯示 AC 相關 QTL 中有三個受環境影響 (8.1 %)；GC 相關 QTL 中有兩個受環境影響(1.1 %)；GT 相關 QTL 中有一個 QTL 受環境影響(0.3%)；Wan *et al*. (2005)報告中所找到的 QTL 與前人的尋找結果有大部分是相同區域，學者認為這樣的結果是因為做了不同環境的重複試驗，將環境所造成的誤差降到最小，Wan *et al*. (2005)也發現有些 QTL 在八個環境下的重複試驗中都有出現。Kobayashi *et al* (2003)表示，利用不同栽培地點及不同栽培季節進行 QTL 的分析時，發現植株的單一數量性狀是由十幾個以上的基因共同調控，有少數幾個基因間具有正、負向調控作用，有些基因會受到環境的影響而造成表現上的差異。

綜言之，許多重要農藝性狀都是由多基因控制的數量性狀，在進行數量性狀之 QTL 定位分析中，會因為選擇的親本不同、族群大小及所使用的分子標誌種類與數目而使偵測的 QTL 數目及區域都不盡相同(Brondani *et al*. 2002)，此外，數量性狀又受到環境的影響以及基因型與環境間 (genotype-by-environment, GE)的交感作用等，這些都是 QTL 研究的重要課題(Zhuang *et al*. 2002)。

臺灣消費者對米飯嗜好比較喜愛軟凝膠 (61-100 mm) 品種的米飯，可以經由雜交育種將可調控優良米質特性的基因引入其它栽培品種當中，期望能獲得具香味且米飯食味佳的品種。本試驗所找到米質相關的 QTL 可作為分子標誌補助選拔 (marker-assisted selection, MAS)以增進育種效率(Wan *et al*. 2005)，或是進一步建構高解析度圖譜(fine mapping)，針對目標 QTL 進行據圖選殖(map-based cloning)，以了解其基因功能及特性(Tanksley 1993)。

引用文獻

A.A.C.C. (1983) American Association of Cereal Chemists Approved Methods. 8th ed. Method 46-12. Crude protein-Kjeldahl method, rev. October, 1986.

Ahn SN, CN Bollich, AM Mcclung, SD Tanksley (1993) RFLP Analysis of genomic regions associated with cooked-kernel elongation in rice. **Theor. Appl. Genet.** 87:27-32.

Aluko G, C Martinez, J Tohme, C Castano, C Bergman, JH Oard (2004) QTL mapping of grain quality traits from the interspecific cross *Oryza sativa* x *O. glaberrima*. **Theor. Appl. Genet.** 109:630-639.

Bao JS, YR Wu, B Hu, P Wu, HR Cui, QY Shu (2002) QTL for rice grain quality based on a DH population derived from parents with

similar apparent amylose content. **Euphytica** 128:317-324.

Bhattacharya KR, CM Sowbhagya (1979) Pasting behavior of rice: A new method of viscography. **J. Food Sci.** 44:797-804.

Botstein B, RL White, M Skolnick, RW Davis (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. **Amer. J. Hum. Genet.** 32:314-331.

Brondani C, N Rangel, V Brondani, E Ferreira (2002) QTL mapping and introgression of yield-related traits from Oryza glumaepatula to cultivated rice (*Oryza sativa* L.) using microsatellite markers. **Theor. Appl. Genet.** 104:1192-1203.

Cagampang, GB, CM Perez, BO Juliano (1973) A gel consistency test for eating quality of rice. **J. Sci. Food Agric.** 24:1589-94.

Cai HW, H Morishima (2002) QTL clusters reflect character associations in wild and cultivated rice. **Theor. Appl. Genet.** 104:1217-1228.

Cho YG, MY Eun, SR McCouch, YA Chae (1994) The semidwarf gene, *sd-1*, of rice (*Oryza sativa* L.). II. Molecular mapping and marker-assisted selection. **Theor. Appl. Genet.** 89:54-59.

Fan CC, XQ Yu, YZ Xing, CG Xu, LJ Luo, Q Zhang (2005) The main effects, epistatic effects and environmental interactions of QTLs on the cooking and eating quality of rice in a doubled-haploid line population. **Theor. Appl. Genet.** 110:1445-52.

He P, SG Li, Q Qian, YQ Ma, JZ Li, WM Wang, Y Chen, LH Zhu (1999) Genetic analysis of rice grain quality. **Theor. Appl. Genet.** 98:502-508.

Hittalmani S, N Huang, B Courtois, R Venuprasad, HE Shashidhar, JY Zhuang, KL Zheng, GF Liu, GC Wang, JS Sidhu, S Srivantaneeyakul, VP Singh, PG Bagali, HC Prasanna, G McLaren, GS Khush (2003) Identification of QTL for growth- and grain yield-related traits in rice across nine locations of Asia. **Theor. Appl. Genet.** 107:679-90.

Juliano BO, CM Perez (1983) Major factors affecting cooked milled rice hardness and cooking time. **J. Texture Stud.** 14: 235.

Juliano BO, CM Perez, AB Blakeney, T Castillo, N Kongseree, B Lalgnelet, ET Lapis, VVS Murty, CM Paule, BD Webb (1981). International cooperative testing on the amylose content of milled rice. **Starch Staerke** 33:157-162.

Juliano BO, CM Perez, EP Alyoshin, VB Romanov, AB Blakeney, LA Welsh, NH Choudhury, LL Delgado, T Iwasaki, N Shibuya, AP Mossman, B Siwi, DS Damardjati, H Suzuki, H Kimura (1984) International cooperative test on texture of cooked rice. **J. Texture Stud.** 15:357-376.

Kobayashi S, Y Fukuta, T Sato, M Osaki, GS Khush (2003) Molecular marker dissection of rice (*Oryza sativa* L.) plant architecture under temperate and tropical climates. **Theor. Appl. Genet.** 107:1350-1356.

Lanceras JC, ZL Huang, O Naivikul, A Vanavichit, V Ruanjaichon, S Tragoonrung (2000) Mapping of genes for cooking and eating qualities in Thai jasmine rice (KDML105). **DNA Res.** 7:93-101.

Lander ES, P Green, J Abrahamson, A Barlow, MJ Daly, SE Lincoln, L Newburg (1987) Mapmaker: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. **Genomics** 1:174-181.

Li T, T Takano, Y Nagamura, G Takeda (1994) Linkage analysis of rice lactate dehydrogenase gene. **Rice Genet. Newsl.** 11: 109-111.

Li, JM, JH Xiao, S Grandillo, LY Jiang, YZ Wan, QY Deng, LP Yuan, SR McCouch (2004) QTL detection for rice grain quality traits using an interspecific backcross population derived from cultivated Asian (*Oryza. sativa* L.) and African (*O. glaberrima* S.) rice. **Genome** 47:697-704.

Lin MH, CW Lin, JC Chen, YC Lin, SY Cheng, TH Liu, FJ Jan, ST Wu, FS Thseng, HM Ku (2007) Tagging rice drought-related QTL with SSR DNA markers. (in Chinese with English abstract) **Crop Environ. Bioinform.** 4: 65-76.

Little, RR, GH Hilder, EH Dawson (1958) Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milled white rice. **Cereal. Chem.** 35:111-126.

McCouch, SR, X Chen, O Panaud, S Temnykh, Y Xu, YG Cho, N Huang, T Ishii, M Blair (1997) Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding. **Plant Mol. Biol.** 35:89-99.

McCouch SR, L Teytelman, Y Xu, KB Lobos, K

Clare, M Walton, B Fu, R Maghirang, Z Li, Y Xing, Q Zhang, I Kono, M Yano, R Fjellstrom, G DeClerck, D Schneider, S Cartinhour, D Ware, L Stein (2002) Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). **DNA Res.** 9:199-207.

Moncada P, CP Martinez, J Borrero, M Chatel, H Gauch, E Guimaraes, J Tohme, SR McCouch (2001) Quantitative trait loci for yield and yield components in an *Oryza sativa* x *Oryza rufipogon* BC_2F_2 population evaluated in an upland environment. **Theor. Appl. Genet.** 102:41-52.

Nagaraju J, M Kathirvel M, KR Ramesh, EA Siddiq, SH Hasnain (2002) Genetic analysis of tranditional and evolved Basmati and non-Basmati rice varieties by using fluorescence-based ISSR-PCR and SSR markers. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 99: 5836-5841.

Nelson JC (1997) QGene: software for marker-based genomic analysis and breeding. **Mol. Breed.** 3:239-245.

Price AH (2006) Believe or not, QTLs are accurate. **Trends Plant Sci.** 11: 213-216.

Salvi S, R Tuberosa (2005) To clone or not to clone plant QTLs: present and future challenges. **Trends Plant Sci.** 10:297-304.

Septiningsih EM, KR Trijatmiko, S Moeljopawiro, SR McCouch (2003) Identification of quantitative trait loci for grain quality in an advanced backcross population derived from the Oryza sativa variety IR64 and the wild relative *O. rufipogon*. **Theor. Appl. Genet.** 107:1433-1441.

Song S, MC Hong, AN Hsu (1991) Studies on rice quality in Taiwan. (in Chinese) Taichung District Agricultural Improvement Station Special Issue 24. p18.

Tan YF, JX Li, SB Yu, YZ Xing, CG Xu, Q Zhang (1999) The three important traits for cooking and eating quality of rice grains are controlled by a single locus in an elite rice hybrid, Shanyou 63. **Theor. Appl. Genet.** 99:642-648.

Tanksley SD (1993) Mapping polygenes. **Annu. Rev. Genet.** 27:205-233.

Tautz D (1989) Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. **Nucl. Acids Res.** 17:6463-6471.

Thomson MJ, TH Tai, AM McClung, ME Hinga, KB Lobos, Y Xu, C Martinez, SR McCouch (2003) Mapping quantitative trait loci for yield, yield components, and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza rufipogon* and the *Oryza sativa* cultivar Jefferson. **Theor. Appl. Genet.** 107:479-493.

Vos P, R Hogers, M Bleeker, M Reijans, TVD Lee, M Hornes, A Frijters, J Pot, J Peleman, M Kuiper, M Zabeau (1995) AFLP: a new technique for DNA fingerprinting**. Nucl. Acids Res.** 23 (21):4407-4414.

Wan XY, J M Wan, CC Su, CM Wang, WB Shen, JM Li, HL Wang, L Jiang, SJ Liu, LM Chen, H Yasui, A Yoshimura (2004) QTL detection for eating quality of cooked rice in a population of chromosome segment substitution lines. **Theor. Appl. Genet.** 110:71-9.

Wan, XY, JM Wan, JF Weng, L Jiang, JC Bi, CM Wang, HQ Zhai (2005) Stability of QTLs for rice grain dimension and endosperm chalkiness characteristics across eight environments. **Theor. Appl. Genet.** 110:1334-1346.

Wu, YP, HS Lur (2002) Breeding of rice quality. **Chinese Agron. J.** 12:93-124.

Xiao J, J Li, S Grandillo, SN Ahn, L Yuan, SD Tanksley and SR McCouch (1998) Identification of trait-improving quantitative trait loci alleles from a wild rice relative, *Oryza rufipogon*. **Genetics** 150: 899-909. Suppl.

Yamamoto T, H Lin, T Sasaki, M Yano (2000) Idetification of heading date quantitative trait locus *Hd6* and characterization of its epistatic interactions with *Hd2* in rice using advanced backcross progeny. **Genetics** 154:885-891.

Yan J, J Zhu, C He, M Benmoussa, P Wu (1999) Molecular marker-assisted dissection of genotype × environment interaction for plant type traits in rice (*Oryza sativa* L.). **Crop Sci.** 39:538-544.

Zhuang JY, YY Fan, ZM Rao, JL Wu, YW Xia, KL Zheng (2002) Analysis on additive effects and additive-by-additive epistatic effects of QTLs for yield traits in a recombinant inbred line population of rice. **Theor. Appl. Genet.** 105:1137-1145.

－編輯：楊純明